

# PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 04-248982

(43)Date of publication of application : 04.09.1992

---

(51)Int.CI.

C12N 1/20  
C12P 7/64

---

(21)Application number : 03-033320

(71)Applicant : SAGAMI CHEM RES CENTER  
TAKARA SHUZO CO LTD

(22)Date of filing : 04.02.1991

(72)Inventor : YAZAWA KAZUYOSHI  
WATANABE KAZUO  
KONDO SEI  
AZUMA NOBUYUKI

---

## (54) PRODUCTION OF BACTERIA CAPABLE OF PHOTOSYNTHESIS CONTAINING HIGHLY UNSATURATED FATTY ACID

### (57)Abstract:

PURPOSE: To easily obtain the title bacteria on an industrial scale in high efficiency in a short time.

CONSTITUTION: Bacteria capable of photosynthesis are incubated in a medium incorporated with a fatty oil containing a highly unsaturated fatty acid and/or its derivative. Examples of the include those belonging to Rhodopseudomonas, Rhodospirillum.

---

### LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the  
examiner's decision of rejection or application  
converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of  
rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision  
of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

特開平4-248982

(43)公開日 平成4年(1992)9月4日

(51) Int.Cl.<sup>5</sup>  
 C 12 N 1/20  
 C 12 P 7/64

識別記号 庁内整理番号  
 A 7236-4B  
 8114-4B

F I

技術表示箇所

## 審査請求 未請求 請求項の数1(全4頁)

(21)出願番号 特願平3-33320

(22)出願日 平成3年(1991)2月4日

(71)出願人 000173762  
 財団法人相模中央化学研究所  
 東京都千代田区丸の内1丁目11番1号  
 (71)出願人 591038141  
 寶酒造株式会社  
 京都府京都市伏見区竹中町609番地  
 (72)発明者 矢澤 一良  
 神奈川県相模原市鷺野森571 グリーンハイツD 1~501  
 (72)発明者 渡辺 和郎  
 神奈川県相模原市南台1-9-2  
 (74)代理人 弁理士 中本 宏 (外2名)

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 高度不飽和脂肪酸含有光合成細菌の製造法

## (57)【要約】

【目的】 高度不飽和脂肪酸含有光合成細菌を工業的に効率良く、短時間で、容易に得ることのできる製造法を提供する。

【構成】 光合成細菌を、高度不飽和脂肪酸及び／又はその誘導体を含む油脂を添加した培地中で培養する。細菌の例としてはロドシュードモナス属、ロドスピリルム属が挙げられる。

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 光合成細菌を、高度不飽和脂肪酸及び／又はその誘導体を含む油脂を添加した培地中で培養することを特徴とする高度不飽和脂肪酸含有光合成細菌の製造法。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【産業上の利用分野】 本発明は、高度不飽和脂肪酸含有光合成細菌を製造する方法に関する。該光合成細菌は食品、飼料、肥料及び医薬品、農業、水産、化成品などの分野において有用である。

## 【0002】

【從来の技術】 光合成細菌はその菌体中に良質のタンパク質を豊富に含んでおり、また細菌性葉綠素やカロチン系色素、ビタミン含量も多く、養殖漁業において、重要な飼料となり、既に市販もされている。更に食品、肥料としての利用も考えられている。

## 【0003】

【発明が解決しようとする課題】 しかしながら、かかる光合成細菌が有する脂肪酸としては炭素数16～18の飽和脂肪酸及び／又はモノエン脂肪酸を主成分とするものであり、炭素数18以上かつ不飽和結合2以上の不飽和脂肪酸（以下、高度不飽和脂肪酸と称す）。特に近年稚仔魚の増養殖に必須とされているエイコサペンタエン酸やドコサヘキサエン酸を全く含有していない。本発明の目的は、高度不飽和脂肪酸含有光合成細菌を工業的に効率良く、短時間で、容易に得ることのできる製造法を提供することにある。

## 【0004】

【課題を解決するための手段】 本発明を概説すれば、本発明は高度不飽和脂肪酸含有光合成細菌の製造法に関する発明であって、光合成細菌を、高度不飽和脂肪酸及び／又はその誘導体を含む油脂を添加した培地中で培養することを特徴とする。

【0005】 本発明者らは、上記の目的に合った製造法を見出すために銳意研究の結果、培地中に高度不飽和脂肪酸及び／又はその誘導体を含む油脂を添加して培養し\*

表 1

酢酸ナトリウム	0. 3%
リン酸一カリウム	0. 05%
塩化マグネシウム	0. 02%
塩化ナトリウム	0. 01%
塩化第二鉄	0. 0001%
硫酸アンモニウム	0. 03%
酵母エキス	0. 3%
ペプトン	0. 3%

pH 7.0

【0010】 培地中に添加する油脂としては、脂肪酸の遊離型、エステル型、塩等の誘導体を含む油脂を用いる

\*た光合成細菌の脂質について、次のような知見を得た。すなわち、①光合成細菌の総脂質含有量は乾物換算で6～12重量%と高く、そのうち90%以上がリン脂質であること、②リン脂質の脂肪酸組成を見ても高度不飽和脂肪酸が10～30重量%と高いこと、③本発明で用いる光合成細菌の増殖速度は著しく速く、多量の菌体を極めて短時間のうちに得ることができること、等である。本発明は、以上の知見に基づいて完成されたものである。

【0006】 本発明で用いる高度不飽和脂肪酸及び／又はその誘導体を含む油脂としては、好ましくは総脂肪酸中の高度不飽和脂肪酸の占める割合が10重量%以上のものが良く、このようなものの例を挙げるとイワシ、サバ、アジ等の脊背魚より抽出した油脂、マグロやカツオ等の大型海産魚の眼窓脂肪由來の油脂、微生物や藻類由來の油脂、イカ等の肝臓より抽出した海産物由來の油脂などが好ましい例として挙げられる。

【0007】 本発明で使用できる光合成細菌は、特に属、種あるいは株などを限定するものではないが、通常は、ロドシュードモナス (*Rhodopseudomonas*) 属、ロドスピリルム (*Rhodospirillum*) 属などに分類される光合成細菌を用いることができる。これらの光合成細菌については公的微生物寄託機関等にて容易に入手できる。例えば上記のロドシュードモナスに属する光合成細菌の例としてロドシュードモナス・キャプシュレイタ (*Rhodopseudomonas capsulata*) FERM P-879, ATCC-17015及びロドスピリルム・ルブルム (*Rhodospirillum rubrum*) ATCC-11170等を挙げることができる。

【0008】 本発明の実施に当っては、光合成細菌を常法により例えば培地で培養し、これを遠心分離法などで集め、洗浄、必要に応じ乾燥して微生物粉末を得る。この際の培地としては例えば下記表1に示す組成の培地を調製することができる。%は重量%である。

## 【0009】

## 【表1】

ことができる。より好ましくは高度不飽和脂肪酸の塩、例えばカリウム塩、ナトリウム塩、カルシウム塩等を含

む油脂を用いることができる。

【0011】添加する油脂は、培地に対し0.001～10重量%、好ましくは0.01～1.0重量%を添加することが、光合成細菌の増殖及び高度不飽和脂肪酸の取り込み率から見て望ましい。また光合成細菌の培養時に乳化剤を添加しても良い。

【0012】培養終了後集菌により菌体あるいは水分を除去した乾燥菌体を得ることができる。このような菌体中には高度不飽和脂肪酸が含有されている。なお、菌体に含有された高度不飽和脂肪酸の総量は、培地に添加された油脂の種類や量、培養温度や時間等により変化するが、およそ1.0～3.0重量%である。

【0013】また所望によりこの光合成細菌菌体から、有機溶剤などを用いて脂質抽出を行い、脱溶剤後、アセトン分画を行い、アセトンに不溶な物質を集めれば、リン脂質の粗分画物を得ることができる。

【0014】このようにして得られた高度不飽和脂肪酸含有光合成細菌菌体は、シオミツツボワムシやアルテミア等の稚仔魚用飼料生物のエサ、あるいは直接稚仔魚用飼料として使用できる。更に食品や動物用飼料、土壤改善用にも使用が可能である。一方該菌体より抽出した高度不飽和脂肪酸リン脂質は、種々の疾病に対する医薬品、化粧品素材、化成品原料としての利用が可能である。

#### 【0015】

【実施例】以下、本発明を実施例により更に具体的に説明するが、本発明はこれら実施例に限定されない。なお、例中の%は特に断らない限り重量%を意味する。

#### 【0016】実施例1

ロドシードモナス・キャブュレイタ ATCC-17015を、表1に示した培地に、マグロ眼窓脂肪より抽出して得られた脂肪酸カリウム塩からなる油脂（該油脂中ドコサヘキサエン酸カリウム30%、エイコサペンタエン酸カリウム8.4%を含有）0.1%を含有せしめ、pH7に調整した培地中で15℃にて10リットル好気培養し、培養物を遠心分離して集め、洗浄して菌体100gを得た。得られた菌体100gをクロロホルム：メタノール=2:1混合溶剤で抽出し、8gの抽出脂質を得た。この脱溶剤後の純脂質にアセトン400mlを加え、冷却しながらかくはんを行い、糖脂質、キノンを分別ろ過によりアセトン不溶分を回収した。得られたアセトン不溶分をクロロホルムに溶解し、次にこの溶液をシリカゲルカラムクロマトグラフィーにかけ、クロロホルム、クロロホルム：メタノール=2:1、クロロホルム：メタノール=1:1及びメタノールで順次展開

した。得られた各フラクションをTLCでチェックし、目的とするリン脂質のフラクションをいくつか見出し、それらを回収し、脱溶剤したところ約7gのリン脂質が得られた。得られたリン脂質の組成はTLC分析の結果、ホスファチジルグリセロール（70%）及びホスファチジルエタノールアミン（20%）が主成分であり、またこれらの脂質の構成高度不飽和脂肪酸はドコサヘキサエン酸18.5%、エイコサペンタエン酸5.6%であった。

#### 【0017】実施例2

上記実施例1に用いた菌株と同じ菌株を、添加する油脂としてエイコサペンタエン酸0.1%を用い、上記実施例1と同様の方法で培養して菌体64gを得た。該菌体を実施例1と同方法にて抽出したところ、リン脂質6.8gを得た。該リン脂質の構成高度不飽和脂肪酸はエイコサペンタエン酸21%であった。

#### 【0018】実施例3

上記実施例1に用いた菌株と同じ菌株を、添加する油脂としてエイコサペンタエン酸カリウム0.1%及びドコサヘキサエン酸カリウム0.1%を用い、上記実施例1と同様の方法で培養して得た光合成細菌菌体の重量を測定したところ66.5gであった。該光合成細菌の含有する高度不飽和脂肪酸は、ドコサヘキサエン酸8.5%、エイコサペンタエン酸17.2%であった。

#### 【0019】実施例4

ロドスピリム・ルブルム ATCC-11170を、添加する油脂としてエイコサペンタエン酸0.1%を用い、上記実施例1と同様の方法で培養して菌体53gを得た。該菌体を実施例1と同方法にて抽出したところ、リン脂質5.8gを得た。該リン脂質の構成高度不飽和脂肪酸はエイコサペンタエン酸19%であった。

#### 【0020】実施例5

ロドスピリム・ルブルム ATCC-11170を、添加する油脂としてエイコサペンタエン酸カリウム0.1%及びドコサヘキサエン酸カリウム0.1%を用い、上記実施例1と同様の方法で培養して得た光合成細菌菌体の重量を測定したところ57.6gであった。該光合成細菌の含有する高度不飽和脂肪酸は、ドコサヘキサエン酸7.4%、エイコサペンタエン酸17.6%であった。

#### 【0021】

【発明の効果】以上説明したように、本発明方法により、高度不飽和脂肪酸含有光合成細菌を効率良く、短時間で且つ容易に得ることが可能となった。

## フロントページの続き

(72)発明者 近藤 聰  
神奈川県大和市中央林間5-16-4

(72)発明者 東 伸幸  
京都府京都市伏見区肥後町369